

# PENYAKIT RABIES DI INDONESIA DAN PENGEMBANGAN TEKNIK DIAGNOSISNYA

R.M.A. ADJID, A. SAROSA, T. SYAFRIATI dan YUNINGSIH

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

## ABSTRAK

Penyakit rabies merupakan penyakit zoonosis yang sangat penting artinya bagi kesehatan masyarakat, karena dapat mengakibatkan kematian pada penderitanya. Penyakit rabies tersebar di berbagai negara termasuk Indonesia. Upaya pemberantasan rabies yang dilakukan masih banyak mengalami kendala. Hasil-hasil penelitian yang dilakukan di Balai Penelitian Veteriner dapat menunjang pemberantasan rabies di Indonesia, terutama dalam hal teknik diagnosis. Berbagai aspek penelitian rabies yang dilakukan yaitu penggunaan zat pengawet spesimen, cara pengirimannya serta pengambilan otak anjing dengan metode *straw*; penggunaan preparat sentuh kornea mata sebagai spesimen *intra vitam*; teknik *neutralization peroxidase linked assay* (NPLA) atau modifikasi uji *fluorescent antibody virus neutralization test* (FAVN) pada *multispot slide*, aplikasinya di lapangan; deteksi antigen dengan penggunaan *rapid rabies enzyme immunodiagnostic* (RREID); serta pembuatan konjugat *fluorescent isothiocyanate* (FITC). Uji *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk deteksi antibodi rabies telah dikembangkan, namun masih dijumpai adanya reaksi tidak spesifik. Teknik *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR) telah diteliti, namun aplikasinya sulit dilaksanakan pada spesimen *intra vitam*. Demikian halnya dengan racun ekstrak biji kemalakuan dan ekstrak biji picung juga diteliti sebagai pengganti *strychnine* untuk eliminasi anjing di lapangan, namun masih diperlukan penelitian lanjutan.

**Kata kunci:** Rabies, zoonosis, penelitian, diagnosis

## ABSTRACT

### RABIES IN INDONESIA AND THE DEVELOPMENT OF ITS DIAGNOSTIC TECHNIQUES

Rabies is a zoonotic disease which is crucial for public health, as it can infect human beings and causes death. Rabies has spread across the world including Indonesia. Control to eradicate rabies still faces many obstacles. Rabies research at Research Institute for Veterinary Science emphasizes on rabies eradication focussing on some aspects of diagnostic techniques. Studies on the specimen preservation, the shipment to the laboratory and the collection of brain specimens by straw method as well as the use of cornea touch preparat as *intra vitam* specimens have been conducted. Rabies diagnostic techniques by NPLA or modified FAVN on multispot slides and their applications in the field have also been studied. This paper also describes the preparation of FITC conjugate. ELISA technique was developed for serological test but still need to be improved to reduce non specific reaction, while RREID was used for antigen detection. Rabies diagnostic was conducted by using RT-PCR but its application was very difficult to be done for *intra vitam*. Research on *Croton tiglium* and *Pangium edule* extracts as an alternative for the strychnine poison used for dog elimination in the field has also been conducted but further research is needed in the future.

**Key words:** Rabies, zoonosis, research, diagnostic

## PENDAHULUAN

Penyakit rabies merupakan penyakit zoonosis yang sangat penting artinya bagi kesehatan masyarakat, karena apabila penyakit tersebut menyerang manusia dan tidak sempat mendapat perawatan medis akan mengakibatkan kematian dengan gejala klinis yang mengharukan. Penyakit rabies tersebar luas di berbagai belahan dunia, termasuk Indonesia. Menurut *World Health Organization* (WHO), pada tahun 1988 rabies terjadi di 92 negara dan bersifat endemik di 72 negara. Hampir semua kematian pada manusia yang disebabkan oleh rabies terjadi di daerah tropik, dengan kejadian penularan melalui gigitan anjing (KING, 1992). Bila ditinjau dari aspek perkembangan industri

peternakan, dampak rabies mungkin kecil artinya, tetapi ditinjau dari segi kesehatan masyarakat, serta dari segi sosial ekonomi, maka dampaknya cukup dirasakan, terutama dari segi pariwisata.

Penyakit rabies disebabkan oleh virus dari genus *Lyssavirus*, famili *Rhabdoviridae* (CLIQUET dan MEYER, 2004), menyerang susunan syaraf pusat atau *central nervous system* (CNS). Berdasarkan patogenesisnya, virus rabies ini menjalar dan merambat dari susunan syaraf perifer (tempat luka gigitan) menuju CNS dengan kecepatan 3 mm/jam (SUDARDJAT, 1990). Virus rabies berada dalam air liur hewan penderita (anjing) beberapa hari sebelum menunjukkan gejala-gejala klinis dengan variasi antara 1-13 hari (BOGEL, 1987).

Diagnosis penyakit di laboratorium dilakukan berdasarkan pemeriksaan spesimen otak dengan metode *fluorescent antibody technique* (FAT), inokulasi pada mencit (*mouse inoculation test*), sedangkan uji serologi yang direkomendasikan oleh *Office Internationale des Epizooties* (OIE, 2000) adalah *fluorescent antibody virus neutralization test* (FAVN). Teknik ELISA untuk deteksi antibodi terhadap virus rabies dalam serum manusia dengan menggunakan antigen glikoprotein virus dikembangkan oleh GRASSI *et al.* (1989). Dalam bidang veteriner, teknik tersebut juga sudah mulai diaplikasikan oleh DELGADO dan CARMENES (1997) untuk memantau reaksi tanggap kebal pascavaksinasi di Spanyol.

Untuk pemberantasan rabies di negara-negara maju, di Eropa telah diterapkan pemakaian vaksin rabies oral, baik berupa vaksin rabies rekombinan maupun vaksin rabies yang memakai virus rabies galur mutan yang tidak ganas (ARTOIS *et al.*, 1993; VOS *et al.*, 2000).

Makalah ini menguraikan hasil penelitian penyakit rabies di Indonesia yang dititikberatkan pada pengembangan teknik diagnosis dan aplikasinya untuk deteksi sampel dari lapangan.

## PROBLEMATIK RABIES DI INDONESIA

Di Indonesia, rabies dilaporkan pertama kali oleh SCHORL pada tahun 1884, menyerang seekor kuda di Bekasi, Jawa Barat. Selanjutnya pada tahun 1889 ESSER melaporkan kasus rabies pada seekor kerbau di daerah Bekasi, sedangkan rabies pada anjing dilaporkan oleh PENNING tahun 1890 di Tangerang. Kasus rabies pada manusia dilaporkan oleh E. DE HAAN, menyerang seorang anak di Desa Palimanan, Cirebon tahun 1894 (SUDARDJAT, 1990). Berdasarkan studi retrospektif, wabah rabies di Indonesia dimulai pada tahun 1884 di Jawa Barat; tahun 1953 di Jawa Tengah; Jawa Timur; Sumatera Barat, kemudian tahun 1956 di Sumatera Utara. Selanjutnya Sulawesi Selatan dan Sulawesi Utara tahun 1958; Sumatera Selatan tahun 1959; Lampung tahun 1969; Aceh tahun 1970; Jambi; DI Yogyakarta tahun 1971; DKI Jakarta; Bengkulu dan Sulawesi Tengah tahun 1972; Kalimantan Timur tahun 1974; Riau tahun 1975; Kalimantan Tengah tahun 1978 dan Kalimantan Selatan tahun 1981 (DIREKTORAT BINA KESWAN, 1995).

Kejadian rabies di Indonesia sampai dengan tahun 1995 telah dilaporkan, sebanyak 20 dari 27 propinsi masih dinyatakan tertular rabies. Sementara itu, tujuh propinsi lainnya dinyatakan bebas rabies, yaitu Bali, Nusa Tenggara Barat (NTB), Nusa Tenggara Timur (NTT), Timor Timur, Kalimantan Barat, Maluku, Irian Jaya dan pulau-pulau di sekitar Sumatera. Pada tahun 1997 berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian No 892/Kpts/TN/560/9/97 tanggal 9 September 1997,

Jawa Timur, Jawa Tengah dan DI Yogyakarta dinyatakan bebas rabies (TIM KOORDINASI PEMBEBASAN RABIES TINGKAT PUSAT, 1998). Pada akhir tahun 1997, wabah rabies timbul di Kabupaten Flores Timur, Nusa Tenggara Timur akibat adanya pemasukan anjing secara ilegal dari Pulau Buton Sulawesi Tenggara, yang merupakan daerah tertular rabies (DIREKTORAT BINA KESWAN, 2001a). Pada tahun 2004, berdasarkan SK Menteri Pertanian No. 566/Kpts/PD/PD640/10/2004, DKI Jakarta, Banten dan Jawa Barat dinyatakan bebas rabies, sehingga dengan demikian Pulau Jawa dinyatakan bebas rabies. Dengan demikian daerah bebas sampai dengan awal tahun 2005 adalah Pulau Jawa, Propinsi Bali, NTB, Kalimantan Barat dan Papua.

Sampai dengan tahun 2005 ini, keberadaan rabies di Indonesia sudah mencapai 121 tahun, tetapi kondisinya masih banyak wilayah di Indonesia yang tertular rabies. Upaya yang dilakukan oleh pemerintah untuk memberantas rabies dengan program vaksinasi dan eliminasi anjing secara rutin setiap tahun tidak banyak memberikan hasil, bahkan di daerah-daerah tertentu kasus rabies semakin meningkat.

Dari hasil pengamatan di lapangan (SAROSA *et al.*, 1999) diketahui bahwa, kendala yang menyebabkan terjadinya rangkaian gagalannya upaya pemberantasan rabies adalah pengadaan vaksin. Jumlah vaksin yang disediakan oleh pemerintah untuk keperluan vaksinasi rabies sangat kurang dan tidak sesuai dengan populasi hewan penular rabies (anjing) yang ada. Demikian halnya dengan pelaksanaan vaksinasi di sebagian daerah belum sesuai dengan prosedur yang benar, yaitu vaksin dibawa tanpa pendingin. Sarana penyimpanan vaksin di banyak daerah sangat minim sehingga akan dapat mempengaruhi potensi vaksin yang digunakan. Disamping itu, kualitas racun yang dipakai pada program eliminasi, seringkali mengakibatkan tidak dapat mematikan anjing yang terjaring pada program eliminasi. Lalu lintas hewan penular rabies (HPR) antar daerah bahkan dari daerah tertular ke daerah bebas sulit diawasi. Lain dari itu wilayah kerja yang sangat luas, ditambah medan yang berat, tenaga SDM karantina kesehatan hewan yang kurang memadai serta partisipasi masyarakat dan pemerintah daerah dalam membantu program pemberantasan rabies juga masih kurang, sehingga rangkaian permasalahan tersebut dapat merupakan hambatan keberhasilan pemberantasan rabies di Indonesia (SAROSA *et al.*, 1999).

## KEBIJAKAN PEMBERANTASAN RABIES DI INDONESIA

Pemberantasan rabies di Indonesia pada dasarnya dilakukan sesuai dengan rekomendasi WHO, yaitu vaksinasi anjing dengan cakupan 70% dan eliminasi 30%. Namun pelaksanaannya dapat diubah/diatur

sesuai dengan kondisi daerah dan situasi sosial budaya setempat. Vaksinasi diarahkan kepada anjing-anjing peliharaan, sedangkan sasaran eliminasi adalah anjing-anjing liar atau anjing-anjing yang diliaran yang tidak jelas pemiliknya.

Pada masa lalu, kegiatan pemberantasan rabies dengan vaksinasi dan eliminasi dilakukan dengan membagi rata jumlah vaksin dan racun ke semua wilayah daerah tingkat II. Sekarang pola ini diubah dengan metode *Local Area Specific (LAS) Problem Solving*, yaitu penanganan rabies melalui pendekatan spesifik wilayah yang prinsipnya terdiri atas ketentuan-ketentuan DIREKTORAT BINA KESWAN (2001b) yaitu:

1. Lokasi: Kegiatan dipusatkan di daerah-daerah kasus/wabah ditambah di daerah-daerah lain yang berbatasan langsung dengan daerah kasus.
2. Populasi: Sasaran/target vaksinasi dan eliminasi adalah semua hewan penular rabies (HPR) terutama anjing di daerah kasus/wabah, sehingga diperlukan penghitungan populasi anjing yang akurat.
3. Vaksinasi: Vaksinasi dilakukan terhadap semua anjing piaraan di daerah kasus dengan radius 10 km dimulai dari titik terluar menuju ke arah titik awal kejadian kasus/wabah.
4. Eliminasi: Eliminasi dilakukan terhadap semua anjing liar atau yang diliaran.
5. Sosialisasi: Sosialisasi kepada masyarakat dilakukan sebelum pelaksanaan vaksinasi dan eliminasi (2 minggu sebelum pelaksanaan).
6. Waktu: Kegiatan vaksinasi dan eliminasi dilakukan secara serempak di semua wilayah (dalam kurun waktu yang bersamaan).
7. Organisasi: Dibentuk organisasi pelaksanaan yang solid mulai dari tingkat pusat sampai ke tingkat desa.

#### **PENGEMBANGAN DIAGNOSIS PENYAKIT RABIES**

Penelitian penyakit rabies yang dilakukan di Balai Penelitian Veteriner (Balitvet) dilaksanakan untuk menunjang program pemberantasan penyakit rabies sesuai dengan fungsi yang diemban Balai, yaitu melakukan penelitian veteriner termasuk dari aspek diagnosis penyakit. Penelitian rabies sudah dilakukan sejak tahun 1950 (SIDHARTA *et al.*, 1996), namun demikian prioritas penelitian untuk penyakit rabies tersebut pada saat itu lebih rendah dibandingkan dengan penelitian penyakit hewan produksi komoditas seperti sapi, kerbau dan unggas. Sejak tahun 1980, penelitian penyakit zoonosis mulai dirasakan kepentingannya, seiring dengan perkembangan dan dinamika sosial ekonomi dan budaya masyarakat.

Hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap penyakit rabies antara lain:

#### **Penyimpanan sampel otak untuk pemeriksaan rabies**

Zat pengawet gliserin NaCl 50% yang digunakan dalam pengiriman sampel otak ke laboratorium berpengaruh terhadap kualitas sampel. Sedangkan bentuk sediaan apus pada gelas objek yang sudah difiksasi dengan larutan aseton dingin lebih baik dari pada penggunaan gliserin dalam diagnosis rabies. Penelitian ini dilakukan sehubungan dengan sering diterima sampel yang sudah rusak karena lamanya perjalanan dalam pengiriman. Dari pengujian yang dilakukan di laboratorium terhadap penyimpanan sampel otak positif rabies, diketahui bahwa sediaan apus yang sudah difiksasi dengan larutan aseton memberikan hasil pemeriksaan dengan FAT cukup baik, walaupun sediaan tadi sudah disimpan selama 15 hari pada suhu kamar. Sedangkan sampel otak yang disimpan pada pengawet gliserin NaCl sudah rusak menjadi bubur pada hari ke-15, sehingga hasil pemeriksaan dengan FAT sulit dievaluasi (SIDHARTA *et al.* 1996).

#### **Metode *straw* untuk pengambilan sampel otak anjing**

Berdasarkan rekomendasi WHO, pengambilan sampel otak anjing dilakukan melalui *foramen occipitalis*. Dengan metode ini, petugas tidak perlu membuka tulang tengkorak anjing dan dengan metode *straw* sekaligus dapat diambil ke-4 bagian otaknya, yaitu otak besar, otak kecil, hipokampus dan batang otak. Metode ini pelaksanaannya di lapangan cukup aman, praktis dan lebih mudah (SIDHARTA *et al.*, 1995).

Pengambilan sampel otak anjing dengan metode *straw*, dilakukan dalam kegiatan surveilans epidemiologi rabies bersamaan dengan program eliminasi anjing di Kotamadya Bandar Lampung dan Banjarbaru, Kalimantan Selatan pada tahun 1993. Dari 98 sampel otak anjing dengan pemeriksaan FAT dari Kotamadya Bandar Lampung, 2 sampel positif rabies (2,04%), sedangkan dari Banjarbaru dari 98 sampel otak, 5 sampel positif rabies (5,1%) (SIDHARTA *et al.*, 1995).

#### **Aplikasi metode *straw* untuk deteksi rabies pada anjing liar yang terjaring pada saat program eliminasi**

Masih berkaitan dengan tugas yang diberikan kepada Balitvet berdasarkan Pedoman Teknis

Pelaksanaan Pembebasan Rabies Terpadu di Indonesia tahun 1997, tentang penelitian terhadap karier yaitu pada anjing-anjing liar yang dieliminasi.

Pada tahun 1998 telah dilakukan penelitian di Kotamadya Padang, Sumatera Barat untuk mengambil sampel otak anjing-anjing liar yang terjaring program eliminasi. Dipilihnya Kotamadya Padang sebagai daerah sasaran penelitian karena di daerah ini kasus rabies sangat tinggi. Pengambilan sampel otak dilakukan dengan metode *straw*. Hasil pemeriksaan dengan FAT menunjukkan bahwa, dari 105 sampel otak ditemukan 3 sampel yang positif rabies (2,85%). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa anjing-anjing liar yang berkeliaran pada malam hari itu merupakan sumber penularan rabies, sehingga untuk memutus siklus penularan rabies sebenarnya diperlukan program eliminasi secara kontinyu, periodik sepanjang tahun, tidak terbatas pada bulan-bulan rabies saja (SAROSA *et al.*, 2000).

#### **Aplikasi diagnosis *intra vitam* dengan pemeriksaan preparat sentuh kornea mata dari manusia yang diduga menderita rabies**

Pada tahun 1998 telah dicoba mendiagnosis kasus diduga rabies dari spesimen asal manusia dari Flores yang dikirim oleh petugas dari Departemen Kesehatan. Preparat yang dikirim berupa preparat sentuh kornea mata yang telah difiksasi. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa pemeriksaan preparat sentuh kornea mata dari penderita rabies dapat digunakan sebagai spesimen untuk diagnosis *intra vitam* (SAROSA, 1999; *unpublish*), walaupun dengan catatan bila hasilnya positif, pasti hasilnya positif, tetapi kalau negatif maka belum tentu hasil akhirnya negatif (SCHNEIDER, 1975).

#### **Diagnosis rabies dengan modifikasi uji FAVN pada anjing-anjing di daerah bebas rabies**

Berdasarkan pedoman teknis pelaksanaan pembebasan rabies terpadu 1997 (TIM KOORDINASI PEMBEBASAN RABIES TINGKAT PUSAT, 1997), Balitvet mendapat tugas untuk melakukan kegiatan penelitian:

- A. Penelitian terhadap hewan *carrier* virus rabies pada anjing umur 3 bulan dan anjing liar yang dieliminasi.
- B. Penelitian antibodi rabies di daerah bebas rabies yang dibandingkan dengan daerah tertular.
- C. Isolasi dan penentuan strain-strain virus rabies yang non patogenik untuk pembuatan vaksin, misalnya di Bali.

Dalam kaitannya dengan tugas tersebut telah dilakukan penelitian pendahuluan dengan melakukan uji serologi pada anjing-anjing di Bogor yang riwayatnya belum pernah divaksinasi. Uji serologi yang dilakukan adalah modifikasi dari FAVN *test*, uji tersebut tidak menggunakan *microplate* tetapi dikerjakan pada *multispot slide*. Dari 32 sampel serum anjing, 5 diantaranya (15,6%) merupakan reaktor (SAROSA, 1998; *unpublish*). Dari 5 sampel reaktor tersebut, 2 sampel diantaranya diambil dari anjing yang dipelihara sejak lahir sampai dewasa dan belum pernah divaksinasi oleh pemiliknya. Adanya zat kebal pada anjing yang menurut keterangan belum pernah divaksinasi (3 ekor) kemungkinan anjing tersebut merupakan pindahan atau adanya pergantian pemilik, 2 ekor lainnya yang belum pernah mendapat vaksinasi dan dipelihara sejak lahir ternyata juga merupakan reaktor. Penelitian di Finlandia yang dilakukan oleh SIHVONEN *et al.* (1995), dilaporkan hal yang serupa, yaitu ditemukannya anjing reaktor di daerah bebas yang menurut keterangan pemiliknya belum pernah mendapat vaksinasi. Skandinavia adalah negara bebas rabies, tetapi di negara tersebut ditemukan reaktor positif pada rusa (SIHVONEN *et al.*, 1993). Pola tersebut dinyatakan oleh peneliti sebagai hasil uji *false* positif, mungkin disebabkan oleh substansi non antibodi. Fenomena yang ditemukan di Finlandia ini mungkin juga sama dengan yang ditemukan pada penelitian pendahuluan ini di Balitvet, uji serologik tersebut mempunyai nilai yang kecil atau kurang bermakna apabila dipakai untuk studi sero epidemiologi terhadap penyakit rabies (SAROSA, 1998; *unpublish*).

#### **Diagnosis rabies dengan NPLA pada biakan sel lestari**

Salah satu uji serologik untuk rabies yang direkomendasikan oleh OIE adalah uji netralisasi virus (*fluorescent antibody virus neutralization test*, FAVN *test*) dikerjakan pada pelat mikro (*microplate*) menggunakan biakan sel lestari BHK21 (*baby hamster kidney*) *clone* 13 dan antigennya virus rabies galur CVS dengan pembacaannya dipakai pewarnaan FAT. Teknik ini memerlukan peralatan yang khusus dan cukup mahal, yaitu mikroskop *inverted fluorescent*. Untuk mencari alternatif lain telah dicoba melakukan pengembangan teknik *neutralization peroxidase linked assay* (NPLA). Teknik ini mempunyai prinsip yang sama dengan FAVN *test*, hanya pewarnaannya berbeda yaitu dengan pewarnaan *immunoperoxidase*, menggunakan *conjugate anti dog HRPO*, sebagai substrat digunakan *3-amino-9-ethyl carbazole* (AEC). Setiap uji selalu disertai dengan kontrol serum positif dan serum negatif. Apabila serum yang diuji mengandung antibodi terhadap virus rabies, maka sel yang terinfeksi virus rabies tetap jernih tidak berwarna,

sedangkan jika serum yang diuji tidak mengandung antibodi terhadap virus rabies terlihat adanya foki yang berwarna coklat kemerahan karena virusnya dapat menginfeksi sel, sehingga akan terjadi reaksi ikatan antara virus, konjugat dan substrat. Teknik NPLA ini telah dilakukan untuk memeriksa sebanyak 794 sampel serum anjing pascavaksinasi rabies dari beberapa daerah di Indonesia dengan hasil 87,66% positif. Pemakaian uji ini lebih praktis karena cukup dibaca dengan mikroskop *inverted* biasa, tidak perlu memakai mikroskop *inverted fluorescent* (SIDHARTA *et al.*, 1996)

#### Diagnosis rabies dengan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)

Uji serologi dengan pewarnaan *fluorescent* atau dengan NPLA masih menggunakan virus hidup sebagai antigen dan memakai biakan sel lestari yang perawatannya cukup rumit dan mahal. Uji tersebut juga harus dikerjakan secara steril. Pada tahun 1993 dirintis teknik ELISA untuk uji serologi rabies. Tujuan pengembangan teknik ini agar dapat dilakukan oleh laboratorium-laboratorium di daerah yang tidak memiliki peralatan lengkap, tetapi dapat menyiapkan pengadaan antigen sendiri. Untuk itu telah dicoba sebagai antigen pelapis/*coating antigen* adalah vaksin rabies inaktif IMOVAX (IFFA Merieux, Perancis) dengan pengenceran 1 : 6400, serum kontrol positif dengan nilai *optical density* (OD) = 2,00, serum kontrol negatif dengan nilai OD = 0,09. Serum diencerkan dalam 1 : 100. Teknik ELISA ini telah dicoba dipakai untuk memeriksa serum anjing prevaksinasi dan pascavaksinasi rabies dari beberapa daerah di Indonesia. Hasil uji dapat diketahui tanggapan kebal terhadap rabies dari hewan-hewan yang divaksinasi, namun demikian hasil uji pada beberapa sampel serum dari kelompok prevaksinasi ditemukan reaktor positif, kemungkinan merupakan reaksi non spesifik (SIDHARTA, 1995).

#### Diagnosis rabies dengan teknik *rapid rabies enzyme immunodiagnostic* (RREID)

Dalam rangka mencari metode diagnosis rabies untuk deteksi antigen virus yang praktis aplikasinya, telah dilakukan penelitian pendahuluan tentang penggunaan teknik *enzyme immunoassay* yaitu *rapid rabies enzyme immunodiagnostic* (RREID), prinsipnya adalah seperti teknik ELISA (BOURHY dan PERRIN, 1996). Pada penelitian ini telah berhasil dibuat antisera terhadap virus rabies pada kelinci. Antisera diambil, immunoglobulinnya diendapkan dengan memakai *caprylic acid* menurut metode MC KINNEY dan PARKINSON (1987). Setelah konsentrasi proteinnya dihitung, Immunoglobulin G (IgG) tersebut di

konjugasikan dengan enzim *horseradish peroxidase* (HRPO) menurut metode NAKANE dan KAWAOI (1974). Dari hasil konjugasi ini telah diperoleh konjugat anti rabies HRPO. Keberhasilan teknik ini untuk deteksi antigen virus rabies masih dalam pengujian (SAROSA dan ADJID, 2003). Apabila teknik ini berhasil dikembangkan, aplikasinya cukup praktis karena hasil reaksi dapat dibaca secara visual dan dapat dikerjakan dalam *microplate* ELISA sehingga dapat untuk mengerjakan sampel dalam jumlah banyak secara sekaligus.

#### Pembuatan konjugat *fluorescent isothiocyanate* (FITC)

Pada pertemuan *National Reference Coordinating Committee* (NRCC) yang diadakan di Bogor tanggal 28–29 Oktober 2004, telah dibahas tentang semakin sulitnya memperoleh sumber konjugat untuk uji FAT, sehingga perlu diupayakan produksi dalam negeri. Dalam kaitannya dengan masalah ini, Balitvet telah berupaya mencoba melakukan pembuatan konjugat untuk keperluan uji FAT. Antisera yang diproduksi pada kelinci, immunoglobulinnya dipisahkan dan dimurnikan dengan *Sepharose column* (Amersham Biosciences). Setelah dihitung konsentrasi IgG, kemudian dilakukan konjugasi dengan FITC (Sigma) dengan *ratio* 0,1 mg FITC dengan 10 mg protein IgG, dalam buffer bikarbonat pH 9,5. *Unconjugated* FITC dipisahkan dengan ultrafiltrasi dengan *molecule cut off* 10.000 kD. Hasil konjugasi ini yang merupakan konjugat antirabies FITC telah diaplikasikan untuk menguji sampel yang positif maupun negatif rabies. Hasil pengujian produk FITC-IgG konjugat tersebut terhadap sampel negatif tidak memberikan reaksi, tetapi terhadap sampel positif memberikan hasil reaksi positif, sampai pada pengenceran konjugat 1 : 40 masih memberikan hasil reaksi positif (SAROSA dan TARIGAN, 2005; *unpublish*). Produksi FITC-IgG konjugat ini mempunyai prospek baik sebagai reagen diagnostik rabies dan dapat diproduksi di Balitvet apabila diperlukan.

#### Diagnosis rabies secara molekuler biologi: pengembangan *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR)

Dalam rangka mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi (IPTEK) telah dicoba pemakaian teknik RT-PCR untuk diagnosis sampel yang positif rabies. Teknik RT-PCR telah diuji coba di laboratorium untuk diagnosis rabies. Peluang untuk mengembangkan teknik ini dalam penelitian rabies semakin terbuka, dalam upaya mempelajari epidemiologi molekuler penyakit rabies. Untuk menjajagi kemungkinan

menggunakan RT-PCR untuk keperluan diagnosis rabies *intra vitam* (diagnosis ketika hewan masih hidup) sangat memungkinkan terutama dalam masa-masa karantina. Tujuan akhir penelitian RT-PCR di Balitvet ini juga untuk mencoba melakukan diagnosis *intra vitam*, namun demikian terjadi kendala karena sulitnya memperoleh sampel saliva anjing yang mengandung virus rabies (SAROSA *et al.*, 2003).

#### Penggunaan racun pengganti *strychnine* sebagai alternatif pada program eliminasi anjing liar

Dalam rangka program eliminasi anjing, banyak dilaporkan sulitnya memperoleh racun *strychnine*. Pada kondisi di lapangan *strychnine* sering kali sudah tidak manjur lagi karena kualitas racun yang tidak baik sehingga tidak dapat mematikan hewan atau anjing yang diracun. Dalam hubungan ini, Balitvet telah mencoba meneliti racun lain sebagai alternatif pengganti *strychnine* dengan jalan melakukan penelitian terhadap 13 jenis tanaman beracun untuk diteliti toksisitasnya. Tiga belas jenis tanaman beracun tersebut adalah daun lelatang, biji karet, biji kapok, biji jarak, kulit batang ceremai, batang kipahit, biji kemalagian, biji picung, umbi gadung, daun tembakau, daun *strychnos nux vomica*, akar tuba dan daun tikusan. Dari hasil penelitian tersebut diketahui bahwa diantara 13 jenis tanaman beracun tersebut yang paling toksik untuk mematikan hewan percobaan (mencit dan anjing) adalah ekstrak biji kemalagian (*Croton tiglium*) dan ekstrak biji picung (*Pangium edule*) (YUNINGSIH *et al.*, 2004a). Dosis mematikan anjing dari kedua jenis ekstrak tersebut adalah 5 ml untuk anjing dengan berat badan 3,5 kg melalui cekok. Waktu kematian yang terjadi dengan cekok ekstrak biji picung adalah 1,5 jam sedang untuk ekstrak biji kemalagian 3,5 jam. Apabila kedua jenis ekstrak tersebut diberikan dengan dicampur makanan, hanya dapat dilakukan sampai dosis 0,5–1 ml saja dan tidak mematikan, tetapi hanya mengakibatkan kelemahan saja, anjing lumpuh, diam tidak bergerak (YUNINGSIH *et al.*, 2004b). Dari hasil penelitian ini masih ditemukan masalah, yaitu sulitnya racun untuk diaplikasikan lewat oral dengan dosis yang mematikan anjing, karena diperlukan volume sebanyak 5 ml.

#### KESIMPULAN DAN SARAN

Penyakit rabies sejak ditemukan pertama kali tahun 1884, sudah menyebar ke sebagian besar propinsi di Indonesia. Sampai dengan awal tahun 2005, daerah yang bebas adalah Pulau Jawa, Propinsi Bali, NTB, Kalimantan Barat dan Papua.

Konfirmasi diagnosis rabies secara laboratoris melibatkan pengambilan dan pengiriman spesimen. Sediaan apus dalam pengawet aseton dingin dapat tahan sampai dengan 15 hari tanpa mempengaruhi uji.

Pengambilan otak anjing dengan metode *straw* adalah cara yang sangat praktis di lapangan. Preparat sentuh kornea mata dapat digunakan sebagai spesimen *intra vitam*. Cara diagnosis lainnya dapat menggunakan uji NPLA atau modifikasi uji FAVN pada *multislot slide* yang juga dapat diaplikasikan pada spesimen dari anjing yang berasal daerah bebas rabies. Untuk uji serologi dapat digunakan uji ELISA, sedangkan untuk deteksi antigen dapat digunakan RREID. Dalam memenuhi kebutuhan sendiri sudah berhasil membuat konjugat FITC dan sudah diuji dengan hasil yang baik. Teknik RT-PCR sudah dapat digunakan, namun aplikasinya sulit dilaksanakan pada spesimen *intra vitam*. Racun ekstrak biji kemalagian dan ekstrak biji picung sebagai pengganti *strychnine* untuk eliminasi anjing di lapangan, masih belum berhasil, sehingga dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mencari bahan alternatif racun lainnya.

Balitvet sebagai institusi yang mengemban tugas melakukan penelitian dalam bidang veteriner dan bernaung di bawah Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian dengan segala keterbatasannya baik dari segi sumber daya manusia (SDM) maupun sarananya, telah ikut berpartisipasi dalam upaya menanggulangi penyakit rabies di Indonesia dengan jalan melakukan berbagai macam penelitian. Hasil-hasil penelitian yang sudah dilaksanakan belum semuanya dapat dimanfaatkan oleh pengguna. Diharapkan untuk masa-masa mendatang hasil-hasil penelitian ini dapat segera disebarluaskan kepada instansi-instansi terkait/pengguna terutama oleh laboratorium-laboratorium kesehatan hewan di daerah.

Untuk masa depan penelitian yang perlu dikembangkan adalah: Penerapan uji serologi FAVN *test* sebagai uji serologi standar yang direkomendasikan oleh OIE; Penelitian tentang uji serologi dengan teknik ELISA dengan menggunakan glikoprotein virus sebagai antigen pelapis. Disamping itu, dalam rangka upaya pemberantasan rabies di Indonesia perlu dijajagi kemungkinan penelitian vaksin rabies oral dengan menggunakan virus rabies mutan tidak ganas.

#### DAFTAR PUSTAKA

- ARTOIS, M., E. MASSON, J. BARRAT and M.F.A. AUBERT. 1993. Efficacy of three oral rabies vaccine baits in the red fox: a comparison. *Vet. Microbiol.* 38: 167–173.
- BOGEL. 1987 Guidelines for Dog Rabies Control Division of Communicable Disease. World Health Organization, Geneva. pp. 1–2.
- BOURHY, H. and P. PERRIN. 1996. Rapid rabies enzyme immunodiagnosis (RREID) for rabies antigen detection. *In: Laboratory Techniques in Rabies 4<sup>th</sup> Edition.* MESLIN, F.X., M.M. KAPLAN and H. KOPROWSKI. (Eds.). World Health Organization Geneva. pp. 105–113.

- CLIQUET, F. and E.P. MEYER. 2004. Rabies and rabies related viruses: a modern perspective on an ancient disease. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 23(2): 625–642.
- DELGADO, S. and P. CARMENES. 1997. Immune response following a vaccination campaign against rabies in dogs from northwestern Spain. *Prev. Vet. Med.* 31: 257–261.
- DIREKTORAT BINA KESEHATAN HEWAN. 1995. Tinjauan di Awal Pelita VI tentang Pemberantasan dan Pengendalian Rabies di Indonesia. Informasi Kesehatan Hewan, Direktorat Bina Kesehatan Hewan, Ditjen Peternakan.
- DIREKTORAT KESEHATAN HEWAN. 2001a. Prosedur Tanggap Darurat Wabah PMK dan Rabies. Kesiagaan Darurat Veteriner Indonesia, RABIES. Direktorat Kesehatan Hewan, Ditjen Bina Produksi Peternakan, Departemen Pertanian.
- DIREKTORAT KESEHATAN HEWAN. 2001b. Kegiatan Darurat Veteriner Indonesia, RABIES. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan, Departemen Pertanian. hlm. 15–17.
- GRASSI, M., A.I. WANDELER and E. PETERHANS. 1989. Enzyme-linked immunosorbent assay for determination of antibodies to the envelope glycoprotein of rabies virus. *J. Clin. Microbiol.* 27(5): 899–902.
- KING, A. 1992. Rabies. A Review in: Recent Advances and current concepts in Tropical. *Vet. Med.*
- MC KINNEY, M.M. and A. PARKINSON. 1987. A simple, non chromatographic procedure to purify immunoglobulins from serum and ascites fluid. *J. Immun. Methods* 96: 271–278.
- NAKANE, P.K. and A. KAWAOI. 1974. Peroxidase labeled antibody: A new method of conjugation. *J. Histochemic. Cytochem.* 22: 1084–1091.
- OIE. 2000. Rabies. Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. List A and B diseases of mammals, birds and bees. *Off. Int. Epiz. World Organisation for Animal Health.*
- SAROSA, A. dan R.M.A. ADJID. 2003. Pengembangan Teknik Enzyme Immunoassay (EIA) untuk Deteksi Virus Rabies pada Otak Hewan. Laporan Hasil Penelitian Tahun 2003. Balai Penelitian Veteriner, Puslitbang Peternakan, Bogor.
- SAROSA, A., R.M.A. ADJID dan A. WIYONO. 2003. Pengembangan teknik reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) untuk diagnosis penyakit rabies. Pros. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Bogor, 29–30 September 2003. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 432–435.
- SAROSA, A., R.M.A. ADJID, G.S. TJANDRA, T. SYAFRIATI dan E. MARTINDAH. 1999. Penelitian Epidemiologi Penyakit Hewan Menular Rabies di Sumatera. Laporan Balai Penelitian Veteriner Bogor pada Rapat Regional Rabies I se Sumatera Tahap II di Bukittinggi. 23–24 November 1999.
- SAROSA, A., R.M.A. ADJID, T.G. SIDHARTA dan JALALUDIN. 2000. Studi penyakit rabies di daerah endemik: Prevalensi infeksi virus rabies pada anjing, kucing dan tikus di Kodya Padang, Sumatera Barat. Pros. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Bogor, 18–19 Oktober 2000. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 561–567.
- SCHNEIDER, L.G. 1975. Spread of virus from the central nervous system. *In: The Natural of rabies vol. I* GEORGE M. BAER. (Ed.). Academic Press. pp. 297–298.
- SIDHARTA, T.G. 1995. Studi pendahuluan pengembangan metode enzim linked immunosorbent assay untuk mendeteksi antibodi virus rabies pada anjing di Indonesia. Pros. Seminar Nasional Teknologi untuk Meningkatkan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak. Cisarua, Bogor, 22–24 Maret 1994. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. hlm. 94.
- SIDHARTA, T.G., A. NURHADI dan ZULKIPLI. 1995. Aplikasi teknik pengambilan dengan menggunakan straw untuk diagnosis rabies. Pros. Seminar Nasional Teknologi Veteriner untuk Meningkatkan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak. Cisarua, Bogor, 22–24 Maret 1994. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. hlm. 93–94.
- SIDHARTA, T.G., A. SAROSA dan P. RONOARDJO. 1996. Tinjauan Hasil Penelitian Penyakit Rabies di Balai Penelitian Veteriner Bogor. Pros. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Cisarua, Bogor, 7–8 Nopember 1995. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 89–94.
- SIHVONEN, L., K. KULONEN, E. NOEVONEN and K. EKKUNEN. 1995. Rabies antibodies in vaccinated dogs. *Acta Vet. Scand.* 36(1): 87–91.
- SIHVONEN, L., K. KULONEN, T. SOVERI and M. NIEMINEN. 1993. Antibodies titres in vaccinated reindeer. *Acta Vet. Scand.* 34: 199–202.
- SUDARDJAT, S. 1990. Kemungkinan Peranan Anjing Geladak sebagai Reservoir Rabies pada Beberapa Daerah Enzootik di Indonesia. Tesis. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- TIM KOORDINASI PEMBEBASAN RABIES TINGKAT PUSAT. 1997. Pedoman Teknis Pelaksanaan Pembebasan Rabies Terpadu di Indonesia 1997. Ditjen Peternakan Deptan, Ditjen Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan, Pemukiman Depkes, Ditjen Pembinaan Umum dan Otonomi Daerah Depdagri.
- TIM KOORDINASI PEMBEBASAN RABIES TINGKAT PUSAT. 1998. Pedoman Teknis Pelaksanaan Pembebasan Rabies Terpadu di Indonesia. Ditjen Peternakan Deptan, Ditjen Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman Depkes, Ditjen Pembinaan Umum dan Otonomi Daerah Depdagri.

- VOS, A., T. MULLER, P. SCHUSTER, H. SCHLUTER and A. NEUBERT. 2000. Oral vaccination of foxes against rabies with SAD B19 in Europe 1983–1998: A review. *Vet. Bull.* 70(1): 1–6.
- YUNINGSIH, R. DAMAYANTI dan LABA UDARNO. 2004a. Efek toksiko-patologik beberapa tanaman beracun pada mencit dalam upaya mencari zat pengganti racun *strychnine* untuk pemberantasan penyakit rabies pada anjing. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4–5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 432–435.
- YUNINGSIH, R. DAMAYANTI, T.B. MURDIATI dan DARMONO. 2004b. Efektifitas Ekstrak Tanaman Beracun Untuk Eliminasi Anjing Liar dalam Rangka Pemberantasan Penyakit Rabies. Laporan Akhir Tahun 2004. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.